

Så tar fett över lymfkörtlarna när vi åldras

En ny studie från forskare vid Uppsala universitet presenterar nya resultat om varför människans lymfkörtlar förlorar sin funktion med åldrande och vad detta får för konsekvenser för hur vårt immunförsvaret fungerar. Artikeln har publicerats i den vetenskapliga tidskriften *The Journal of Pathology*. Här beskriver forskningsledaren **Maria Ulvmar** den senaste kunskapen på området.

Äldre personer visar försämrad funktion av immunförsvaret jämfört med yngre, vilket bland annat leder till sämre förmåga att svara på vaccinationer och högre risk för utveckling av allvarlig sjukdom vid infektioner. Nedgång i immunförsvarets funktion kan också bidra till en högre risk att utveckla cancer. Dels genom sämre förmåga att få specifika (adaptiva) immunsvaret som kan känna igen cancer-cellers mutationer, men också genom förändringar av den inflammatoriska miljön och vävnaderna som indirekt kan påverka immuncellernas funktion, men också främja tillväxt, invasion och sprid-

ning av cancerceller i kroppen. Vår grupp har i nya studier visat på förändringar i lymfkörtlar hos äldre där den normala vävnaden ersätts av fett – lymfkörtel-lipomatos¹. I den här artikeln kommer vi att diskutera bakgrunden till dessa förändringar, konsekvenser för immunförsvaret hos den äldre patienten och de potentiella effekter detta kan ha i samband med spridning av cancer i kroppen.

Varför immunförsvarets hos äldre försämras, är resultatet av många olika förändringar i kroppen. Man brukar använda termen immunoscenesence på engelska². Flera av dessa förändringar

verkar direkt i immuncellerna där både genetiska och epigenetiska förändringar kan påverka genuttryck och därmed förändrar immuncellernas funktion. En annan bidragande faktor är dock förändringar i lymfoida vävnader och organ. Detta inkluderar redan väl kända involutionen av thymus(brässen) som sker redan efter puberteten och förändringar i benmärgens mikromiljö med åldern. Dessa förändringar bidrar till en minskad produktion av naiva T- och B-celler, mindre klonal variation, och därmed minskad förmåga att känna igen nya antigen.



” *Det sker förändringar även av lymfkörtlar när vi åldras där den normala vävnaden i lymfkörtlarna, deras stroma, gradvis ersätts av fett.*

ERSÄTTS GRADVIS AV FETT

Det sker förändringar även av lymfkörtlar när vi åldras där den normala vävnaden i lymfkörtlarna, deras stroma, gradvis ersätts av fett. Detta fenomen är känt som lymfkörtel-lipomatos. Trots att lymfkörtel-lipomatos är vanligt, väl känt bland de patologer som utvärderar lymfkörtlar, och har visats öka med ökande ålder har forskningen kring orsakerna bakom och konsekvenserna av dessa förändringar varit väldigt begränsad fram

till nu. När vi utsätts för en infektion eller när vi vaccineras, men också vid cancer är det i lymfkörtlarna som vårt initiala immunförsvar induceras och koordineras³. Det är där immuncellerna samlas, aktiveras och ökar i antal för att effektivt kunna mobilisera ett specifikt immunförsvar. Experimentella data stödjer också att naiva B- och T-lymfocyter för sin överlevnad över längre tid behöver den miljö som lymfkörtlarna ger i en yngre värd, men kan inte överleva

över tid i en äldre värd⁴. Förlust av lymfkörtlarnas miljö vid åldrande kan därför indirekt vara en bidragande orsak till den minskningen av naiva lymfocyter hos äldre.

Vår grupp har under flera år studerat och kartlagt lymfkörteln specialiserade kärl både strukturellt och molekylärt^{3,5}. Vi har även visat att det sker cancer-inducerade förändringar i lymfkörtlar hos patienter med bröstcancer^{6,7}. Dessa förändringar kan ske redan innan metastasering av tumörceller in i körteln, och påverkar kärlen i körtlarna negativt och därmed förmågan för immunceller att röra sig in och ut ur körtlarna. I pågående studier studerar vi djupare effekterna av dessa förändringar och utvärderar dem även som en ny typ av strukturella biomarkörer⁶ i bröstcancer och bukspottkörtelcancer (PDAC).

Medan cancer-inducerade förändringar är begränsade till patienter med

invasiv cancer, kunde vi observera lymfkörtel-lipomatos i olika grad hos alla grupper av patienter vi studerade, även hos lymfkörtlar från personer utan cancer¹. Det är möjligt att dessa förändringar också påverkar immunförsvar och motståndskraft mot metastasering. Vi bestämde oss därför att studera dessa åldersrelaterade förändringar närmare. Hur påverkar närvaro av fett lymfkörtelns funktion och varför får vi dessa förändringar?

STARTAR INNE I LYMFKÖRTELN

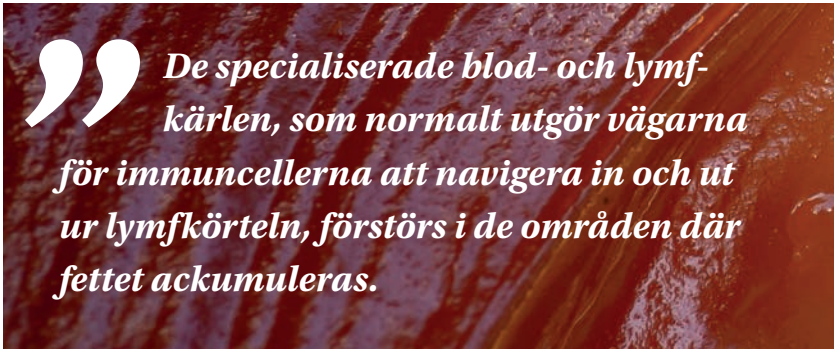
Eftersom lymfkörtlar alltid omges av fettvävnad har en tidigare föreslagen mekanism varit att lipomatos initieras genom att omgivande adipocyter invaderar körteln utifrån via hilus, det kärlknyte som leder ut från körteln. Våra data utmanar emellertid detta som enda mekanism, genom att visa att lipomatos i lymfkörteln startar från lymfkörtelns egna celler. Genom att noga analysera snitt från över 200 lymfkörtlar har vi observerat att lipomatos börjar i den centrala delen av lymfkörteln, känd som medulla¹. I de tidiga stadierna av lymfkörtel-lipomatos observeras endast enskilda fettceller sporadiskt spridda i detta område. Med ökande fett sprider sig området och når till sist även den yttersta delen av lymfkörteln, känt som barken. Vad ligger då bakom denna destruktion av vävnaden? Våra data stöder att det sker en omvandling av lymfkörtelarnas stödjande celler, fibroblaster, till adipocyter (fettceller). Genom att utföra cellexperiment har vi också visat att specifika typer av fibroblaster som finns i de medullära områdena (CD34+ och så kallade MedRCs) har en högre känslighet att transdifferentiera till adipocyter. Dessa celler uppvisar skillnader i grundläggande signaleringsvägar, inklusive aktivering av transkriptionsfaktorn nuclear factor kappa B (NFκB) och signalvägen YAP/TAZ, jämfört med andra typer av fibroblaster i lymfkörteln.

Hos patienter med lipomatos såg vi även i områden med fett en nedregering av signalmolekylen lymfotxin beta (LTβ). LTβ kan inducera aktivering av NFκappaB nedströms dess receptor LTBR. Från experimentella studier på möss, under fosterutvecklingen har andra grupper tidigare visat att LTBR-receptor krävs för att styra utveckling av

lymfkörtelns fibroblaster och motverka utveckling av fettceller.

Fettinlagringen har negativa konsekvenser för lymfkörtelns immunologiska funktion redan i tidiga stadier av lipomatos. De specialiserade blod- och lymfkärlen, som normalt utgör vägarna för immuncellerna att navigera in och ut ur lymfkörteln, förstörs i de områden där fettet ackumuleras. Det gäller både blodkärl, de högendotelsvenoler (HEVs) som rekryterar in B- och T-celler från blodet, och det nätverket av lymfkärl där antigen från vävnaden filtreras. Medan HEV visar dilation och strukturella förändringar, så försvinner lymfkärlsnätverket helt. Orsaken bakom är inte klarlagd

av lipomatos tar fett över lymfkörteln fullständigt. All normal vävnad ersätts av fett, vilket resulterar i en fullständig förlust av lymfkörtelns funktion och dess immunceller. Våra data stödjer att lipomatos i lymfkörtlar, även i dess inledande faser, kan vara en signifikant faktor bakom varför äldre personer har nedsatt förmåga att svara på exempelvis vaccinationer och vi kan spekulera i att det sannolikt också medverkar till ökad risk för sepsis om bakterier förs via lymfan genom dessa körtlar som saknar förmåga till normal filtrering av främmande partiklar. Det behövs dock göras uppföljande kliniska studier för att kunna svara på detta.



” De specialiserade blod- och lymfkärlen, som normalt utgör vägarna för immuncellerna att navigera in och ut ur lymfkörteln, förstörs i de områden där fettet ackumuleras.

men förlust av de omgivande fibroblasterna stör sannolikt endotelcellernas funktion och orsakar därmed apoptos.

SÅ TAR FETTET ÖVER

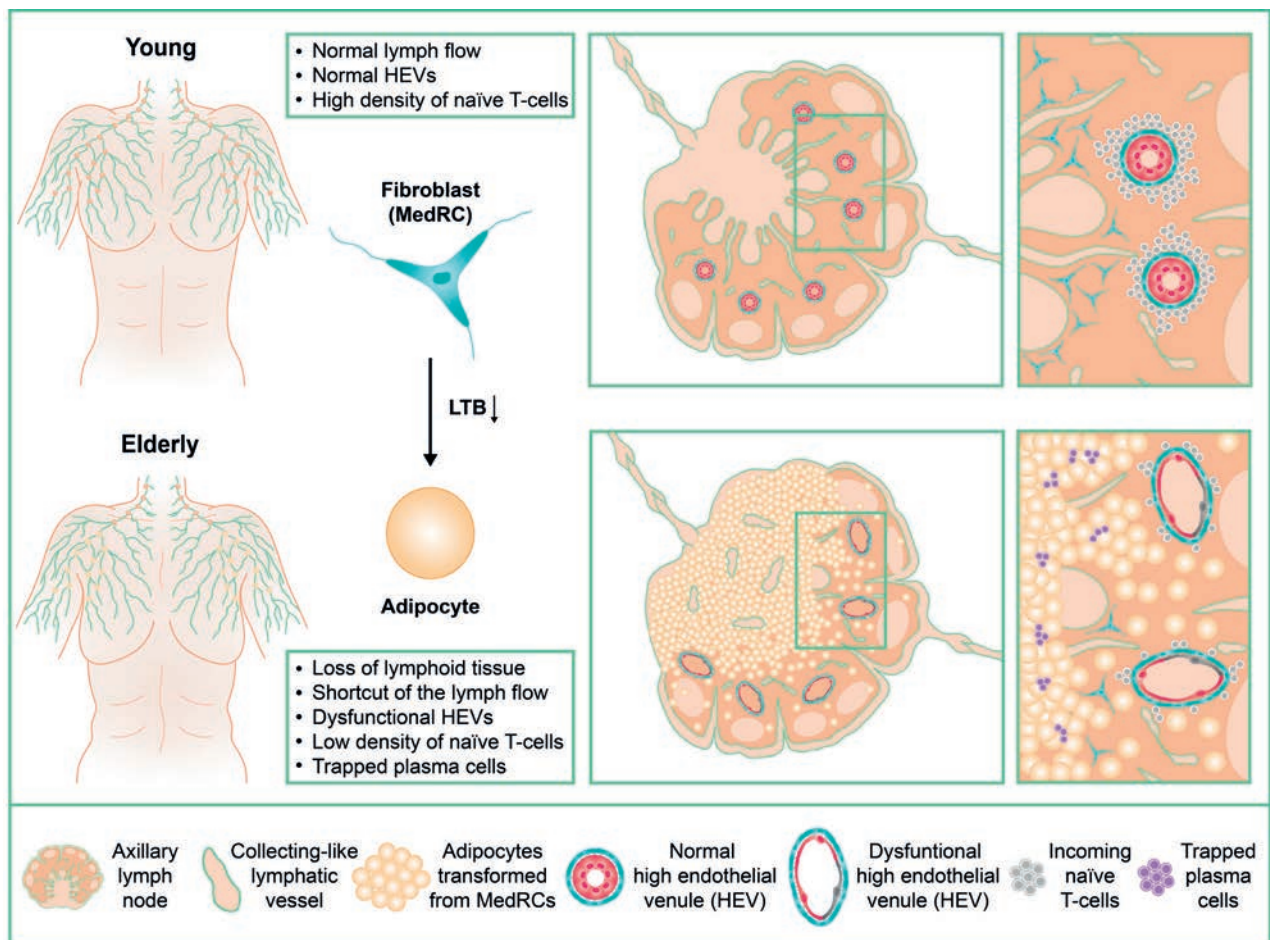
Lymfkärlens nätverk är viktiga för filtrering av den inkommande lymfan från vävnaderna, ger tid och interaktion att oskadliggöra till exempel bakterier. I körtlar där fettet förstört det normala lymfkärlsnätverket, bildas nya lymfkärl, som går rakt igenom fett. Om man uttrycker det figurativt, är detta som att ändra en vindlande väg med många poliskontroller till en rak autobahn utan stopp och med fri passage. En annan slående effekt som vi funktionellt ännu ej kan förklara är en ackumulation av plasmaceller i den ökande fettmassan inne i körteln med ökad lipomatos.

Effekterna fett över tar på kärlen är lokala, det vill säga kan endast ses nära fett. Detta indikerar att det är fett i sig eller faktorer som uttrycks av adipocyterna som leder till att omkringliggande celler störs. I de avancerade stadierna

En orsak att lipomatos studerats så lite överlag och inte alls i cancer, är att det är ovanligt i de djurmodeller som används i experimentell cancerforskning. I lymfkörtlar hos möss observeras istället ökad fibros med ökande ålder⁶. Fibros kan även ses i lymfkörtlar hos människor men har i studier visats vara mer vanligt i de körtlar som dränerar de inre organen, medan lipomatos dominerar i de lymfkörtlar som dränerar perifera vävnader⁹.

POTENTIELLA KONSEKVENSER

Vilka effekter kan då lymfkörtel-lipomatos förväntas ha vid cancersjukdom? Lymfkörtelarna är den tidigaste platsen att drabbas av metastas vid flera typer av cancerformer. Lymfkörtelmetastaser indikerar också ofta ett mer framskridet stadium av sjukdomen, sämre prognos med en högre risk för metastasering till andra organ. Det är viktigt att framhålla att även om lipomatos i lymfkörtlar ökar i frekvens hos äldre, så är det inte ett linjärt samband med ålder. I den stu-



I lymfkörtlar (LNs) hos unga personer (övre panel) observeras normalt lymfflöde med väl fungerande högaendotelvenoler (HEV). Lymfkärlen fungerar som transportvägar för antigen och antigenpresenterande celler till lymfkörteln, där höga endotelvenoler möjliggör inträde för naiva T-celler och B-celler. Vid åldrande (nedre panel) har vår forskning visat att fibroblaster som omger lymfkärlssinus i märgen kan genomgå transdifferentiering till adipocyter. Dessa fibroblaster inkluderar medullära retikulära celler (MedRCs) och CD34+ stromaceller (SC). När de transdifferentierar till adipocyter leder det till gradvis ökad lipomatos i lymfkörteln.

Uttrycket av lymfotoxin beta (LTB), en faktor som normalt motverkar adipogenes, är nedreglerat i mikromiljön kring det ökande fettet hos den åldrande patienten. LN-lipomatos leder till förlust av den normala vävnaden. När fibroblasterna försvinner, minskar även immuncellerna i densitet och de medullära lymfkärlssinuser förloras. I senare stadier av lipomatos ses en kompensatorisk bildning av lymfkärl som penetrerar fettvävnaden, men de bildar inte det nätverk som normalt finns och behövs i lymfkörteln. Lipomatos inducerar också omfattande dysreglering av blodkärlen, vilket resulterar i kraftigt dilaterade HEV, associerade med lägre täthet av naiva T-celler jämfört med yngre individer. Ytterligare förändringar av immunkontexten för det lipomatospåverkade LN inkluderar ackumulering av plasmaceller i det parenkymala fettet.

Från artikel i The Journal of Pathology.

dien vi har gjorde med en medelålder på 58 +/-12 år hade majoriteten av patienterna någon grad av lipomatos, men omfattningen kan skilja mellan några få procent fett i lymfkörteln till att upp till 80 procent fett där i det senare fallet den normala vävnaden och lymfkörtelns immunceller är nästan helt borta [1]. Det betyder att individuella variationer mellan patienter är större än effekten av skillnad i ålder om man tittar över ett snävare åldersspann som 50 till 80 år. En tidigare studie av 572 lymfkörtlar från mastektomi av 43 kvinnor och en man med bröstcancer, visade ingen skillnad

på närvaro av metastaser i körtlar med och utan lipomatos¹⁰. En studie från 2021 med 431 bröstcancerpatienter indikerade dock att förstörade lymfkörtlar med ökad detektion av fett baserat på MRI-undersökning av kontralaterala sidan utan cancerdränering, var associerat med metastas i axillära lymfkörtlar hos kvinnor med övervikt¹¹. Om övervikt är kopplat direkt till lipomatos i lymfkörteln är inte helt klart, lipomatos hittas även hos patienter utan övervikt. Det är intressant att spekulera att övervikt ökar graden av lipomatos i lymfkörteln snarare än incidensen av lipomatos.

Ytterligare forskning krävs, men en patient med hög grad lipomatos i flera lymfkörtlar förväntas ha en sämre förmåga att inducera immunförsvar mot tumören och att stå emot metastasering. Ansamling av fett har diskuterats ha effekt vid metastasering till benmärgen och kan också medverka till en miljö för metabolisk selektion av cancerceller¹². LN-lipomatos kan på liknande sätt spekuleras bidra till en premetastatisk nisch och/eller selektion av specifika egenskaper hos de metastaserande tumörcellerna i lymfkörteln vilket kan påverka vidare spridning. Det är också sannolikt att de



cancer-inducerade förändringarna på körteln ger additiv effekt tillsammans med redan från början immunologisk dysreglering på grund av lipomatos. För att utreda detta ytterligare och se om lipomatos är kopplat till ökad risk för metastasering och/eller påverkan på immunsvaret mot den växande tumören, krävs ytterligare studier. Både basala och kliniskt kopplade studier.

UTBLICK MOT VIDARE FORSKNING

Många frågor återstår, men vår studie är ett första steg att börja förstå orsak och konsekvens av lymfkörtel-lipomatos hos den äldre patienten. Vi genomför just nu en noggrann kartläggning in situ av hur tidig lipomatos påverkar körtelns immunologi genom att titta på över 200 immun- och stromala markörer i lymfkörtlar hos patienter med och utan cancer. Vårt mål är även att förstå hur åldersinducerade förändringar kan samverka med cancerinducerade förändringar. Från ett grundforskningsperspektiv är detta viktigt för att få ytterligare insikt i vilka faktorer det är som kan medverka till att driva på cancerprogression. Från ett perspektiv från biomarkörer kan, lipomatos vara en eventuell faktor att väga in för att förstå patientens immunstatus bättre. Vi arbetar även där för att automatisera detektion (AI-driven bildanalys) och kvantifiering av olika patologis-

ka förändringar i tumördränerande lymfkörtlar⁶.

REFERENSER

1. Bekkhus, T., et al., Stromal transdifferentiation drives lipomatosis and induces extensive vascular remodeling in the aging human lymph node. *J Pathol*, 2023. 259(3): p. 236-253.
2. Haynes, L., Aging of the Immune System: Research Challenges to Enhance the Health Span of Older Adults. *Front Aging*, 2020. 1: p. 602108.
3. Arroz-Madeira, S., et al., Lessons of Vascular Specialization From Secondary Lymphoid Organ Lymphatic Endothelial Cells. *Circ Res*, 2023. 132(9): p. 1203-1225.
4. Thompson, H.L., et al., Lymph nodes as barriers to T-cell rejuvenation in aging mice and nonhuman primates. *Aging Cell*, 2019. 18(1): p. e12865.
5. Xiang, M., et al., A Single-Cell Transcriptional Roadmap of the Mouse and Human Lymph Node Lymphatic Vasculature. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2020. 7(52).
6. Bekkhus, T., et al., Automated detection of vascular remodeling in tumor-draining lymph nodes by the deep-learning tool HEV-finder. *J Pathol*, 2022. 258(1): p. 4-11.
7. Bekkhus, T., et al., Remodeling of the Lymph Node High Endothelial Venules Reflects Tumor Invasiveness in Breast Cancer and is Associated with Dysregulation of Perivascular Stromal Cells. *Cancers (Basel)*, 2021. 13(2).
8. Turner, V.M. and N.A. Mabbott, Structural and functional changes to lymph nodes in ageing mice. *Immunology*, 2017. 151(2): p. 239-247.
9. Luscieti, P., et al., Human lymph node morphology as a function of age and site. *J Clin Pathol*, 1980. 33(5): p. 454-61.
10. Werbin, N., Fatty changes and metastases in axillary lymph nodes. *Journal of Surgical Oncology*, 1984. 25(3): p. 145-147.
11. diFlorio-Alexander, R.M., et al., Fat-enlarged axillary lymph nodes are associated with node-positive breast cancer in obese patients. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2021. 189(1): p. 257-267.
12. Chkourko Gusky, H., et al., Omentum and bone marrow: how adipocyte-rich organs create tumour microenvironments conducive for metastatic progression. *Obes Rev*, 2016. 17(11): p. 1015-1029.

MARIA H. ULVMAR, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK BOKEMI OCH MIKROBIOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, MARIA.ULVMAR@IGP.UU.SE

